

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini yaitu penelitian eksperimen. Penelitian eksperimen ini sebagai pendekatan kuantitatif yang paling memenuhi semua persyaratan untuk menguji hubungan sebab dan akibat. Metode penelitian ini eksperimen ini digunakan untuk mencari pengaruh pada suatu kelompok perlakuan atau beberapa perlakuan tertentu terhadap yang lainnya dalam kondisi yang terkendali dan homogen (Sugiyono, 2012). Penelitian eksperimen ini merupakan suatu cara untuk mengungkapkan suatu fakta-fakta baru, atau untuk menguatkan atau membantah dari hasil penelitian sebelumnya karena data yang sesuai. Dalam penelitian eksperimen selalu ada kelompok perlakuan yang diterapkan dan kontrol, sebab kelompok perlakuan yang diterapkan itu dibandingkan hasilnya dengan kelompok kontrol. Tetapi, tidak semua penelitian eksperimen menggunakan kelompok kontrol (Mamoro, 2005).

3.2 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian memilih rancangan acak lengkap karena peneliti ingin mempelajari pengaruh beberapa perlakuan dengan sejumlah ulangan untuk menjadi sebuah percobaan. Penelitian ini menggunakan metode penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penggunaan metode penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL) karena sampel yang digunakan dibuat sama dari mulai umur, jenis kelamin, berat badan, dibuat dermatitis atopik dengan induksi ovalbumin 10% selama 20 hari, ovalbumin 10% dibuat dari campuran ovalbumin 10gr dan aquades 100 cc (Krisanti, 2007).

Penelitian ini dibagi menjadi empat kelompok perlakuan dan dua kelompok kontrol (kontrol negatif dan kontrol positif) dengan adanya pengulangan dimana satu kelompok terdiri dari empat ekor mencit jantan. Kelompok perlakuan adalah kelompok

yang diberi perlakuan menggunakan gel ekstrak buah palem putri dengan empat konsentrasi berbeda.

K. Kontrol + : Kelompok yang diobati hidrokortison 1%.

K. Kontrol - : Kelompok yang diberi gel tanpa ekstrak buah palem putri.

K. I : Kelompok yang diberi gel ekstrak buah palem putri 25%.

K. II : Kelompok yang diberi gel ekstrak buah palem putri 50%.

K. III : Kelompok yang diberi gel ekstrak buah palem putri 75%.

K. IV : Kelompok yang diberi gel ekstrak buah palem putri 100%.

Perhitungan banyaknya mencit disetiap kelompok perlakuan penelitian ini menggunakan rumus $(t-1)(r-1) \geq 15$ (Hidayat, 2007).

Dalam penelitian ini terdapat enam kelompok perlakuan mencit, oleh karena itu perhitungannya adalah sebagai berikut:

$(t-1)(r-1)$	≥ 15	
$(5-1)(r-1)$	≥ 15	Keterangan
$6r-6-r+1$	≥ 15	t : jumlah kelompok perlakuan
$5r-5$	≥ 15	r : jumlah pengulangan perlakuan
$5r$	$\geq 15+5$	15 : Faktor nilai derajat kebebasan umum
r	$\geq 20/5$	
r	≥ 4	

Dari rumus tersebut diperoleh jumlah ulangan (replikasi) untuk masing-masing perlakuan adalah empat ekor mencit (*Mus musculus*) dan jumlah perlakuan adalah enam. Jadi jumlah keseluruhan sampel yang harus digunakan untuk semua perlakuan pada penelitian ini adalah sebanyak 24 ekor mencit.

Parameter yang diukur adalah lama waktu penyembuhan yang dibutuhkan sampai gangguan kulit tersebut sudah hilang, konsentrasi yang efektif untuk penyembuhan gangguan kulit dan luas area yang dapat disembuhkan menggunakan ekstrak buah palem putri. Pemberian pakan dan minum dilakukan dengan *ad libitum*.

3.3 Subjek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah 24 ekor mencit jantan (*Mus musculus*) dengan umur dua bulan dan berat badan kurang lebih 25 g. Sampel yang digunakan yaitu mencit jantan yang diinduksi menggunakan ovalbumin sehingga menderita dermatitis atopik.

3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di rumah pemeliharaan mencit di Kebun Botani dan Laboratorium Riset FPMIPA B, Universitas Pendidikan Indonesia selama lima bulan dari Januari – Mei 2020.

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Tahap Persiapan

a. Persiapan alat dan bahan

Sebelum melaksanakan penelitian lebih lanjut, bahan-bahan beserta alat yang akan digunakan saat penelitian disterilkan dan disiapkan terlebih dahulu termasuk mempersiapkan sampel buah palem putri (*Veitchia merillii*) untuk pembuatan ekstrak. Buah palem putri diambil dari kompleks Citra Green Hill. Sampel dicuci dengan bersih menggunakan air mengalir sebelum di bawa ke laboratorium riset biologi FPMIPA B, Universitas Pendidikan Indonesia untuk dibuat ekstraknya.

Selain sampel buah palem putri hewan percobaan dibuatkan kandang dari bak plastik berukuran 40 cm x 30 cm x 12 cm. Bak plastik di isi dengan serutan kayu (sekam). Bak plastik diberi ram kawat atasnya agar mencegah mencit keluar dari kandang. Tujuan aklimatisasi hewan dilakukan selama dua sampai tiga hari agar mencit tersebut bisa menyesuaikan diri dengan lingkungan sekitar yang baru.

b. Ekstraksi buah palem putri

Buah palem putri dipilih dari buah palem yang sudah ranum dan berwarna merah. Biji palem putri dikeringkan dengan bantuan sinar matahari, kemudian dihaluskan dengan cara dipukul menggunakan palu dan dihaluskan kembali

Ninda Fregita Hasriani, 2020

UJI PENYEMBUHAN GANGGUAN KULIT PADA MENCIT MENGGUNAKAN EKSTRAK BIJI PALEM PUTRI (*Veitchia merillii*)

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

menggunakan blender. Sampel yang telah halus kemudian diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol selama 3 x 24 jam dengan perbandingan 1:10. Ekstrak yang dihasilkan kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator sampai ekstrak berbentuk seperti pasta (Adawiah, 2016)

c. Pembuatan sediaan gel

Ekstrak buah palem putri dibuat dalam sediaan gel dikarenakan gel dapat mempertahankan kandungan air. Pada penelitian ini dibuat sediaan gel dengan konsentrasi yang telah ditentukan, yaitu 25%, 50%, 75% dan 100%, serta 1 bahan dasar gelnya tanpa ada ekstrak buah palem putri untuk kontrol negatif. Berikut formula standar basis gel CMC-Na (sodium karboksimetil selulosa) menurut Maswadeh *et al.* (2006):

Tabel 3.1. Formula Standar Basis Gel CMC-Na

Komponen	% b/v
CMC-Na	0,1 g
Gliserin	0,2 g
Propilenglikol	0,1 g
Akuades	2 ml

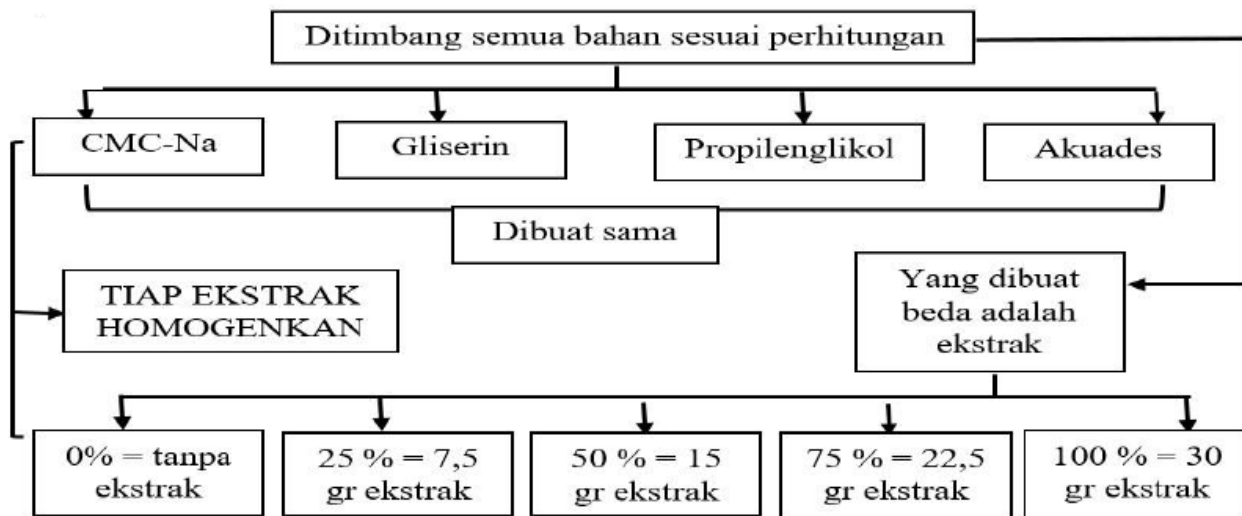
Sehingga formula untuk membuat sediaan gel ekstrak buah palem putri (*Veitchia merillii*) dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% sebagai berikut:

Tabel 3.2. Formula sediaan gel ekstrak biji palem putri (*Veitchia merillii*)

Bahan	Konsentrasi 25% b/v	Konsentrasi 50% b/v	Konsentrasi 75% b/v	Konsentrasi 100% b/v
Ekstrak palem putri	0,5 g	1 g	1,5 g	2 g
CMC-Na	0,1 g	0,1 g	0,1 g	0,1 g
Gliserin	0,2 g	0,2 g	0,2 g	0,2 g
Propilenglikol	0,1 g	0,1 g	0,1 g	0,1 g
Akuades	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml

Gambar 3.2. Sketsa Pembuatan Sediaan Gel Ekstrak Buah Palem Putri (*Veitchia merillii*)

Bahan disiapkan kemudian ditimbang sesuai dengan formula yang telah ditentukan. Ekstrak setiap konsentrasi dilarutkan dalam sebagian air kemudian dipanaskan pada suhu yang sesuai agar tidak terjadi penggumpalan dan tercampur



merata (sekitar 50°C). Kemudian ditambahkan Na-CMC dan diaduk hingga homogen. Ditambahkan gliserin, propilenglikol dan air sebagian lagi dengan pengadukan secara kontinyu hingga terbentuk gel. Gel yang terbentuk kemudian disimpan pada tempat dingin (10-15°C) selama semalam agar membentuk sediaan gel yang lebih kental (Mappa *et al.*, 2013).

3.5.2 Tahap Pelaksanaan

a. Induksi Ovalbumin untuk Menciptakan Kondisi Dermatitis Atopik

Mencit diinduksi menggunakan ovalbumin agar mencit tersebut mengalami gangguan kulit yaitu dermatitis atopik. Sebelum mencit diinduksi ovalbumin, rambut bagian punggung mencit harus dicukur agar nanti terlihat penyakit kulitnya. Induksi 0,2 ml ovalbumin 10% selama 21 hari (Krisanti, 2007). Ovalbumin 10% dibuat dengan melarutkan 10 g ovalbumin dalam 100 cc aquades.

b. Perlakuan Penyembuhan Gangguan Kulit

Disiapkan enam kelompok hewan uji yang terdiri dari empat ekor mencit untuk setiap kelompoknya. Kelompok pertama dengan pemberian ekstrak buah palem putri konsentrasi 25%, kelompok kedua dengan pemberian ekstrak buah palem putri konsentrasi 50%, kelompok ketiga dengan pemberian ekstrak buah palem putri konsentrasi 75%, kelompok keempat dengan pemberian ekstrak buah palem putri konsentrasi 100%. Kontrol positif dengan pemberian hidrokortison 1% dan kontrol negatif dengan pemberian gel tanpa ekstrak buah palem putri.

c. Pengamatan gangguan kulit selama 20 hari

Pengamatan proses penyembuhan gangguan kulit dilakukan sehari setelah hewan uji diberi perlakuan yaitu diinduksi ovalbumin selama 20 hari sehingga membuat mencit tersebut mengalami gangguan kulit dermatitis atopik. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 20 hari dengan mengamati secara makroskopik perkembangan penyembuhan dan pengukuran luas gangguan kulit dermatitis atopik tersebut. Rumus perhitungan menurut Mappa *et al.* (2013) yaitu:

Keterangan:

$$P\% = \frac{do - dx}{do} \times 100\%$$

P% : Persentase penyembuhan gangguan kulit

do : luas gangguan kulit awal

dx : luas gangguan kulit hari pengamatan

d. Prosedur pengujian efek penyembuhan gangguan kulit

Sebelum dilakukan perlakuan, mencit diadaptasikan pada kandang yang baru selama 2 hari, setelah itu rambut di disekitar punggung mencit bagian belakang dibersihkan, selanjutnya diinjeksikan ovalbumin pada punggung mencit tersebut. Gel ekstrak bunga kelapa betina diambil secukupnya dengan kadar konsentrasi yang berbeda yaitu 25%, 50%, 75%, 100% dan dua perlakuan kontrol, yaitu kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol negatif luka dioleskan bahan dasar gel tanpa ekstrak dan kontrol positif dengan memberikan hidrokortison 1% pada luka gangguan kulit, kemudian setiap tingkatan gel juga dioleskan pada bagian tubuh yang mengalami luka.

Ninda Fregita Hasriani, 2020

UJI PENYEMBUHAN GANGGUAN KULIT PADA MENCIT MENGGUNAKAN EKSTRAK BIJI PALEM PUTRI (*Veitchia merillii*)

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

Pemberian gel dilakukan setiap 24 jam sekali. Hasil yang diperoleh diamati dengan cara mengukur luas gangguan kulit serta mencatat waktu penyembuhan luka. Pada pengujian ini perlu diperharikan penanganan hewan coba secara baik sesuai dengan prinsip etik hewan percobaan. Berikut penanganan hewan coba sesuai prinsip 3R dan 5F yang akan dilaksanakan:

1. *Replacement* yaitu pemanfaatan hewan coba diperhitungkan dengan dasar penelitian terdahulu dan berbagai literatur untuk menjawab pertanyaan penelitian. Pada penelitian uji efektivitas penyembuhan luka ini tidak dapat digantikan oleh makhluk hidup lain seperti sel atau biakan jaringan sesuai dengan literatur, oleh karena itu digunakan *Mus musculus*
2. *Reduction* merupakan pemanfaatan hewan coba dengan jumlah sesedikit mungkin, tetapi tetap mendapatkan hasil yang optimal dengan menggunakan rumus ulangan $(n-1)(t-1) > 15$ (n : jumlah hewan/ ulangan yang diperlukan, t : jumlah kelompok perlakuan). Semakin sedikit kelompok perlakuan maka semakin banyak jumlah hewan yang diperlukan sebagai ulangan, serta sebaliknya.
3. *Refinement* adalah memperlakukan hewan percobaan secara manusiawi (*humane*) dengan memperhatikan kesejahteraan hewan coba (*animal welfare*) → 5F:
 1. *Freedom from hunger & thirst* (bebas dari rasa lapar dan haus). Karena di dalam metode ini di beri makan dan minum secara *adlibitum* (sampai kenyang, meskipun makanan dan minuman di sekitarnya masih ada)
 2. *Freedom from pain* (bebas dari rasa sakit). Pada metode mencit dianestesi (dibius) sebelum diberi perlakuan sayatan pada punggung sepanjang 1 cm
 3. *Freedom from distress & feeling discomfort* (bebas dari penderitaan dan rasa gelisah). Pada metode yang digunakan mencit di urus dan dipelihara sampai mencit sehat sehingga lukanya dapat pulih kembali
 4. *Freedom from injury & disease* (bebas dari luka dan penyakit). Mencit memang di lukai sepanjang 1 cm pada punggung bagian belakang yang sebelumnya dianestesi, namun di obati dan dirawat sampai sembuh total, karena tema utama penelitiannya adalah uji efektivitas penyembuhan luka sayat. Tindakan yang dilakukan apabila mencit mengalami infeksi sekunder

ketika proses pembuatan luka atau pada saat penelitian, yaitu dengan cara melakukan pemberhentian penelitian khusus pada mencit tersebut, kemudian dipindahkan pada tempat berbeda, khusus untuk dirawat dan diobati secara rutin dengan memberikan obat antiseptik dan obat penyembuh luka yang telah teruji, misalkan obat betadine sampai infeksi sembuh. Namun selanjutnya tidak digunakan lagi untuk penelitian, karena digantikan oleh mencit yang baru ketika mencit yang awal mengalami infeksi.

5. *Freedom to express their normal behaviour* (bebas berekspresi dan bertingkah laku normal). Pada metode ini, mencit ditempatkan pada kandang yang layak, serta sering dibersihkan sehingga nyaman untuk hidup mencit agar hewan coba tersebut bebas berekspresi dan bertingkah laku dengan normal (Ridwan, 2013)

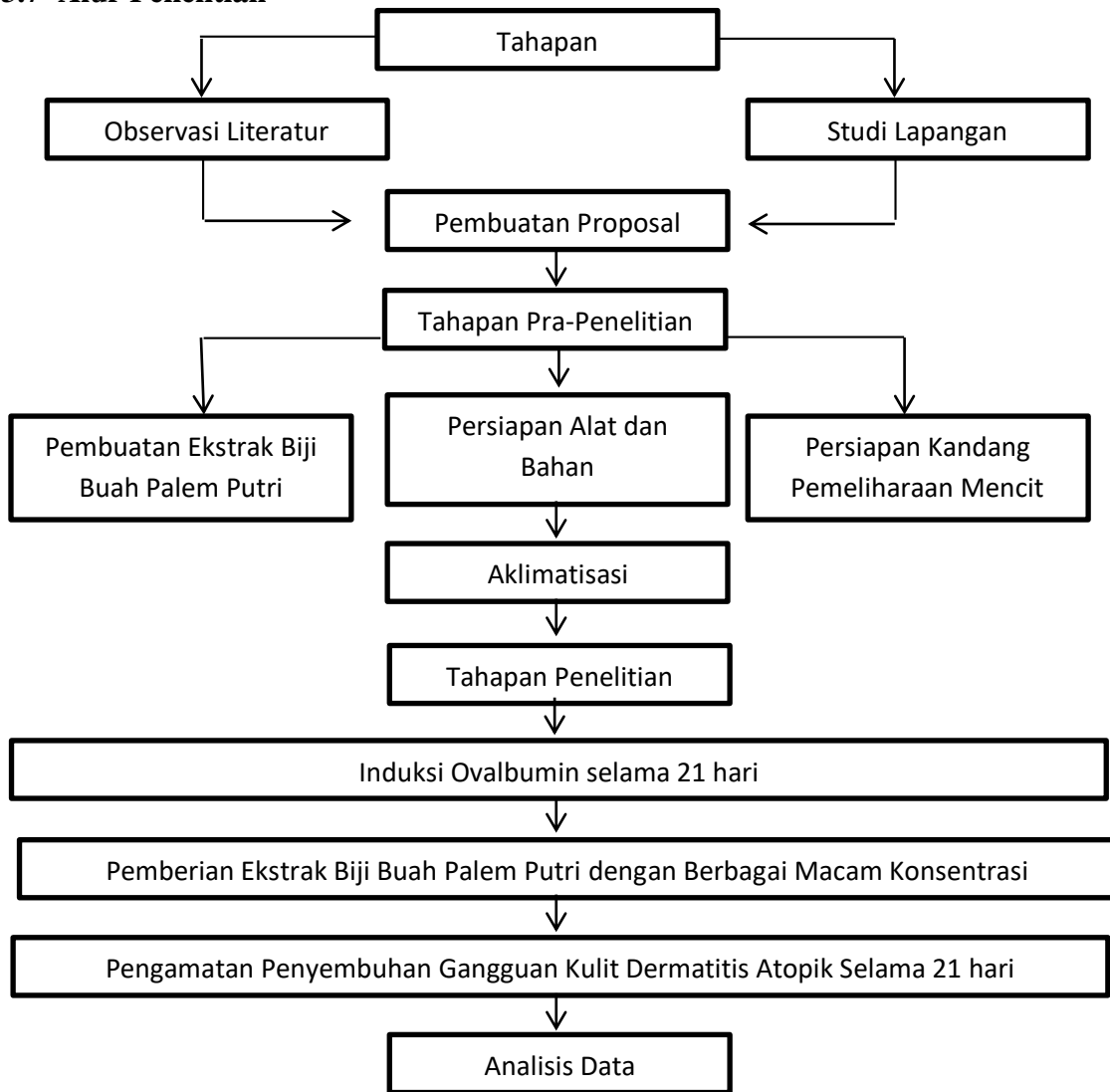
e. **Prosedur Penghentian Penelitian**

Penelitian selesai jika semua hewan coba telah benar-benar pulih. Penelitian berhenti dengan tidak lagi mengamati perubahan ukuran gangguan kulit, namun pemeliharaan masih tetap dilakukan sampai tumbuh rambut lagi sekitar 1 minggu.

3.6 Analisis Data

Data dari hasil penelitian ini, jika data dikatakan homogen dan terdistribusi normal, dianalisis dengan uji *One Way Anova* dengan program *Statistical Product Service Solution* (SPSS) untuk mengetahui ada tidaknya efek penyembuhan gangguan kulit. Uji ANOVA satu arah dipilih karena hanya ada satu variabel independen yang akan diteliti, yaitu persentase penyembuhan gangguan kulit.

3.7 Alur Penelitian



Gambar 3.3. Alur Penelitian